

Title	ループス腎炎の診断, 重症度, 治療予測マーカーと新規治療ターゲット因子の探索
Sub Title	Investigation of predictive markers for diagnosis, severity, and novel therapeutic target factors for lupus nephritis
Author	齋藤, 俊太郎(Saito, Shuntaro)
Publisher	
Publication year	2024
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	腎病理スコアとプロテオームタンパクについて相関性解析、クラスター解析、シグナル解析を行い、特定の腎病理と関連する新規性の高いタンパク3種を同定した。ELISAでの検討、またvalidation cohortでも同様の結果を確認した。ループス腎炎と糖尿病性腎症における差異を確認し、疾患特異性についても確認した。知財管理部門とも連携し知財性が確認し、特許出願を行った(2023-13619)。医学生物学研究所に対し体外診断薬としてのプロトタイプ作成について相談を行い、引き続きデータ拡充を行っていく方針とした。論文作成しリウマチ・膠原病領域のトップジャーナルにUnder reviewとなっている。 We conducted correlation analysis, cluster analysis, and signal analysis on the original renal pathology scores and the proteome proteins, identifying three novel proteins associated with specific renal pathologic features. The results were validated using ELISA and also confirmed in a validation cohort. We also examined differences between lupus nephritis and diabetic nephropathy, confirming disease specificity. Collaboration with the internal intellectual property management department confirmed the patentability, leading to a patent application(2023-13619). We consulted with the MBL company on creating a prototype for an in vitro diagnostic and decided to continue enriching the data. The paper has been written and is currently under review by a leading journal in the rheumatology field.
Notes	研究種目：若手研究 研究期間：2020～2023 課題番号：20K17451 研究分野：臨床免疫学
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_20K17451seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

令和 6 年 5 月 13 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17451

研究課題名（和文）ループス腎炎の診断、重症度、治療予測マーカーと新規治療ターゲット因子の探索

研究課題名（英文）Investigation of predictive markers for diagnosis, severity, and novel therapeutic target factors for lupus nephritis

研究代表者

齋藤 俊太郎（Saito, Shuntaro）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教

研究者番号：60626381

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000 円

研究成果の概要（和文）：腎病理スコアとプロテオームタンパクについて相関性解析、クラスター解析、シグナル解析を行い、特定の腎病理と関連する新規性の高いタンパク3種を同定した。ELISAでの検討、またvalidation cohortでも同様の結果を確認した。ループス腎炎と糖尿病性腎症における差異を確認し、疾患特異性についても確認した。知財管理部門とも連携し知財性が確認し、特許出願を行った(2023-13619)。医学生物学研究所に対し体外診断薬としてのプロトタイプ作成について相談を行い、引き続きデータ拡充を行っていく方針とした。論文作成しリウマチ・膠原病領域のトップジャーナルにUnder reviewとなっている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

全身性エリテマトーデス(SLE)は、本邦では若年女性を中心に約10万人が罹患する、多様な臓器を呈する自己免疫性疾患である。その30-60%がループス腎炎を呈し、その生命予後に大きく影響する。現状ではループス腎炎の診断/重症度分類には侵襲性の高い腎生検を行う以外に有効な手段がなく、ステロイドを含む治療のcomplete responderは20-50%程度でありループス腎炎の診断/重症度評価/治療には未解決の部分が依然として多い。本研究は独自に設定した詳細な腎病理スコアリングシステムと、最新の尿プロテオーム解析を含めた免疫因子の検討を行い、これらの課題解決の一助となるマーカーの探索を目的とした。

研究成果の概要（英文）：We conducted correlation analysis, cluster analysis, and signal analysis on the original renal pathology scores and the proteome proteins, identifying three novel proteins associated with specific renal pathologic features. The results were validated using ELISA and also confirmed in a validation cohort. We also examined differences between lupus nephritis and diabetic nephropathy, confirming disease specificity. Collaboration with the internal intellectual property management department confirmed the patentability, leading to a patent application(2023-13619). We consulted with the MBL company on creating a prototype for an in vitro diagnostic and decided to continue enriching the data. The paper has been written and is currently under review by a leading journal in the rheumatology field.

研究分野：臨床免疫学

キーワード：糸球体腎炎 全身性エリテマトーデス 尿タンパクマーカー 腎病理スコア

1. 研究開始当初の背景

全身性エリテマトーデス(Systemic Lupus Erythematosus, SLE)は、若年女性に好発する、腎臓をはじめ多様な臓器が障害される代表的な自己免疫性疾患であり、本邦患者数は約 10 万人である。SLE の多くが疾患や治療の副作用から QOL が低下し、生命予後も不良である。SLE はその 30-60%と高率にループス腎炎を合併するが、ネフローゼに至り腎機能低下が進行すれば透析を必要とする場合もあり、生命予後に影響する最も重要な臓器障害である。現状では尿所見や血清学的所見の変化のみからループス腎炎を診断することは出来ず、腎生検した病理像の直接鏡検以外には有力な診断手段がない。腎生検の所見からループス腎炎は 6 つの Class に分類され、治療反応性の期待できる活動性病変、治療反応性の期待しにくい慢性病変など、多くの情報が得られる。一方で腎生検はリスクの高い手技であるため、腎生検に代わるループス腎炎の診断/重症度評価/治療効果予測マーカーの確立が望まれる。ループス腎炎においてどのような免疫学的因子が、活動性病変や慢性病変の形成に関わっているかについては、現在まで明確になっていない。ループス腎炎の治療法として、ステロイド療法にシクロフォスファミドやミコフェノール酸モフェチルといった、いずれも特異的な治療ターゲットを持たない免疫抑制剤を併用することがガイドラインで推奨されているが、complete responder は 20-50%程度のみであり、現状では病態特異的な治療方法がない。そこで本研究では、ループス腎炎においてどのような免疫学的因子が、活動性病変や慢性病変の形成に関わるのかを評価することを目的とした。

2. 研究の目的

本研究では上記の問いに対し、「ループス腎炎において活動性病変や慢性病変の形成に関わる免疫学的因子を、尿検体や血液検体など非侵襲的あるいは少侵襲の検査方法を用いて明らかにすることで診断/重症度評価/治療効果予測マーカーを確立し、新規の治療ターゲット分子を探索する」ことを目的とした。

3. 研究の方法

1) ループス腎炎およびコントロール症例の検体収集とデータ集積

本研究では研究同意の得られた活動性ループス腎炎を呈した SLE 患者の臨床情報を取得した。独自の詳細な腎病理スコアリングシステムを設定し、ループス腎炎患者およびコントロール患者として非炎症性病態が想定された糖尿病性腎症においてこれを入力した。

2) 血清・尿検体・腎病理検体の解析

ループス腎炎患者とそのコントロールにおける尿検体を、タンパクの特定配列に結合して少量タンパクでも同定可能な高感度アプタマー法を用い 5000 タンパクにおよぶプロテオーム解析 (<https://somalogic.com/technology/somalogic-clia-laboratory/>)を行った。

3) 統計学的解析

上記、1)2)で得られた情報について、診断/重症度評価/治療効果予測マーカーが適切に抽出されるよう、統計解析の専門家と相談しながら解析を行った。複数因子を用いたロジスティック回帰や、パスウェイ解析などの統計学的処理を組み合わせることで、ループス腎炎の診断、活動性病変や慢性病変の形成に関わる免疫学的因子を明らかにし、治療反応性などの臨床情報とも

合わせて解析を行うことで、診断/重症度評価/治療効果予測マーカーを確立し、新規の治療ターゲット分子を探索した。

4 . 研究成果

入力した腎病理スコアとプロテオームタンパクについてのクラスター解析、相関性解析、シグナルパスウェイ解析を行った。

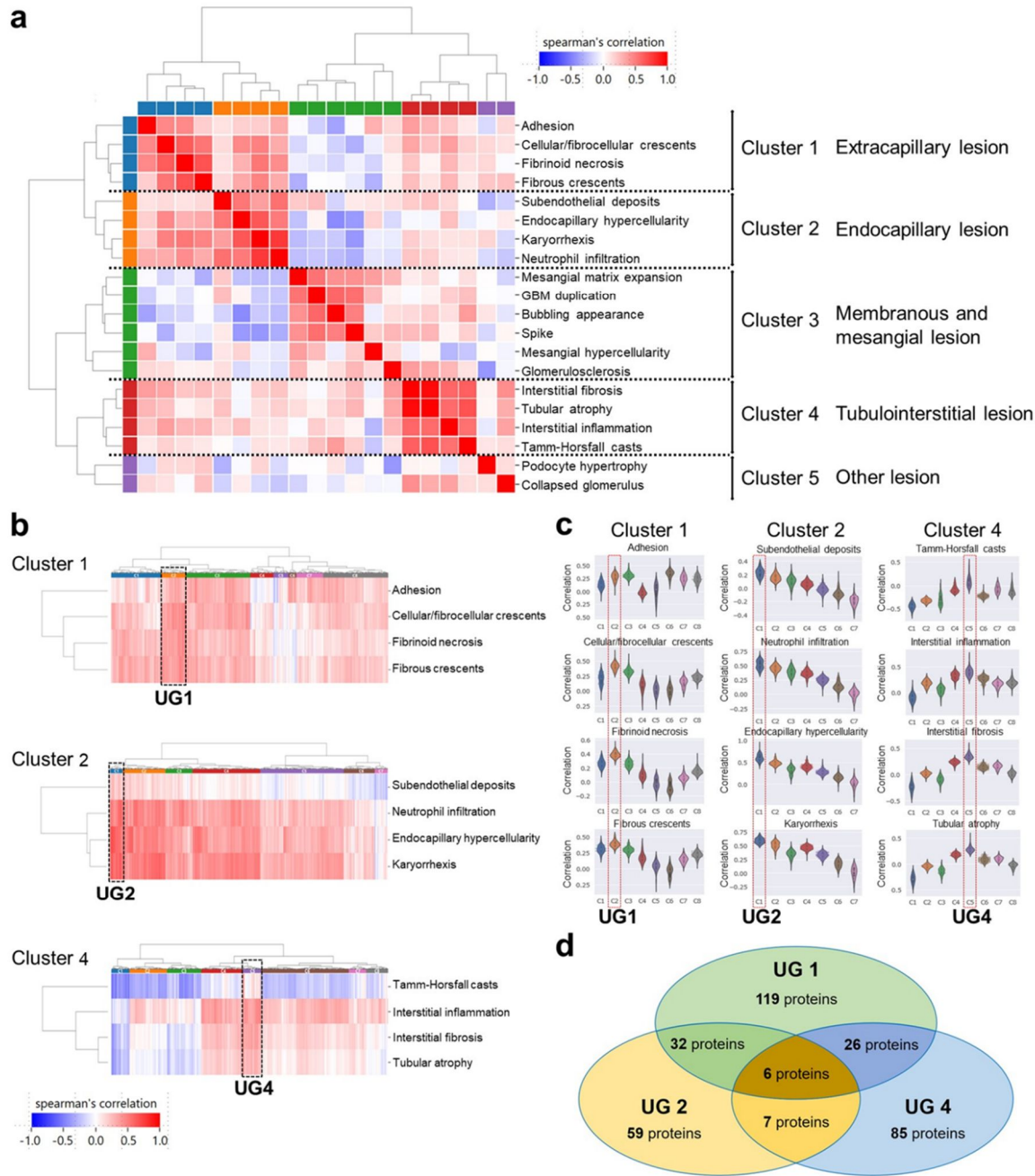


図 1. 病理スコアと尿タンパクにおけるクラスター解析結果

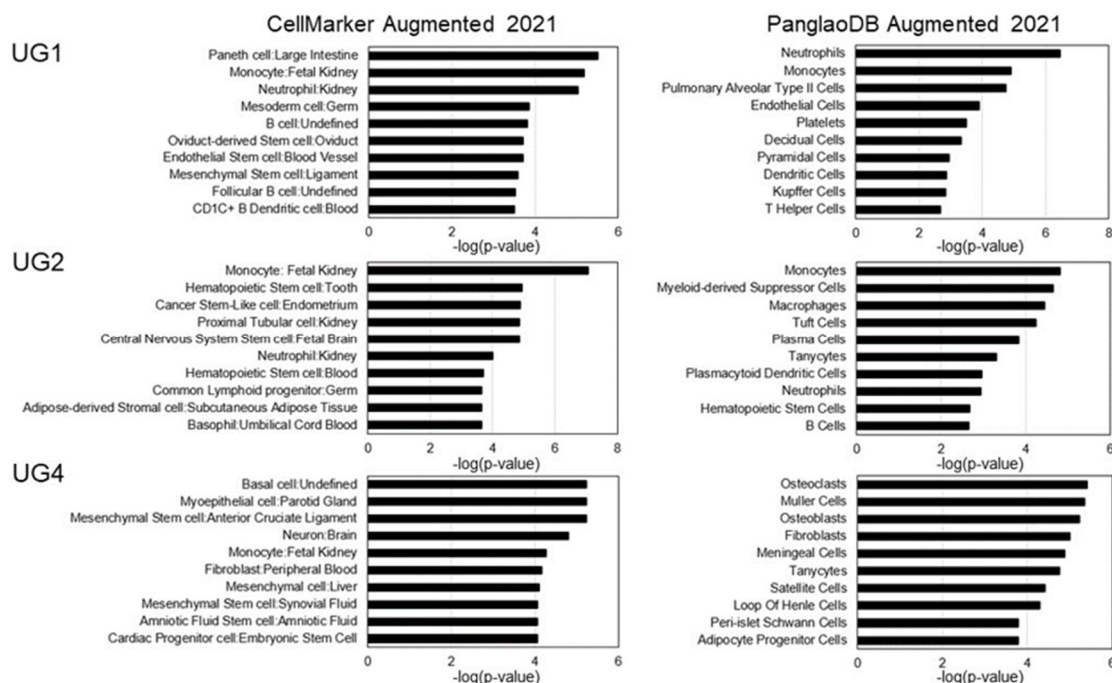


図 2.尿タンパククラスター毎のシグナル解析結果

これらの解析からマーカータンパクを絞り込み、病態説明性について担保した上でタンパク X , Y , Z についてそれぞれ腎病理における活動性病変スコア、慢性病変のスコアと良好な相関性を示すことを確認し、これらのタンパクについて、validation cohort でも結果を確認した。さらに、プロテオーム解析で得られた結果について ELISA でも同様の結果が得られることを確認した。商業ベースで外注した一部項目との相関性も確認した。血清での増加を尿が反映しているかの評価のために血清サンプルとの比較も行ったが、尿タンパクのみで良好な腎病理スコアとの相関性が確認され、腎病態を反映していると考えられた。また、得られたデータについて、ループス腎炎と糖尿病性腎症における差異を確認し、疾患特異性についても確認できた。また、病理所見との相関性を補強するためにループス腎炎で一般的に用いられている Selectivity index での相関性の確認や、新規タンパクについて ELISA の追加測定も完了したため学内の知財管理部門とも連携し知財性が確認できたため、2023.1.31 に特許出願を行った(特許出願 2023-13619, 糸球体腎炎の活動性炎症病変および腎臓間質の線維化病態を呈する腎症における慢性病変を判定するための尿タンパクマーカー、判定方法、並びに判定キット)。R5 年度は医学生物学研究所に対し体外診断薬としてのプロトタイプ作成、特許申請費用の分担を含めた相談を行った。並行して追加解析と論文作成と Submit を行い、リウマチ・膠原病領域のトップジャーナルにおいて Under review となっている。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1 . 発表者名 Kazuoto Hiramoto, Shuntaro Saito
2 . 発表標題 Aptamer-based proteomic screening in identification of pathogenic signal pathway and urinary biomarkers associated with histological findings in lupus nephritis
3 . 学会等名 EULAR 2022, Annual European Congress of Rheumatology (国際学会)
4 . 発表年 2022年 ~ 2023年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 特許権	発明者 齋藤 俊太郎	権利者 慶應義塾
産業財産権の種類、番号 特許、2023-13619	出願年 2023年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6 . 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------